دراسة وجود بكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae الملوثة لبعض التوابل والنباتات المجففة السورية

عهد أبو يونس* **شادن سليم****

ريم البحش***

الملخص

التوابل منتجات طبيعية تُستخدم لإضافة النكهة واللون لأنواع كثيرة من الأطعمة. ونظراً لطريقة إنتاجها التقليدية، فإنها يمكن أن تؤوي مجموعة واسعة من الملوثات، مما يؤدي إلى حدوث حالات تسمم مختلفة لدى استخدامها. تم جمع (75) عينة توابل وبعض المجففات النباتية من الأسواق السورية (النعنع، فلفل اسود، بهار، كمون وفليفلة حمراء ناعمة)، بهدف إجراء تقييم جرثومي لمحتوى تلوثها ببكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae وتحديد الأنواع السائدة فيها، حيث تم التحري عن مجموعة الكوليفورم باستخدام بيئة المكونكي أغار، بعدها تم إجراء مجموعة من الاختبارات البيوكيميائية على السلالات المعزولة من العينات لدراسة خصائصها ومن ثم تحديد هويتها باستخدام نظام API 20E.

لوحظ من نتائج المحتوى الميكروبي لعينات الكمون مقارنة بالمواصفة القياسية السورية رقم 2179 (2007) وجود خمس عينات مخالفة من حيث تعداد الكوليفورم في الكمون،

* استاذ مساعد في قسم علوم الأغذية – جامعة دمشق.

** مهندس في قسم علوم الأغذية – جامعة دمشق.

*** مهندس في قسم علوم الأغذية – جامعة دمشق.

في حين كانت جميع عينات النعنع والفلفل الأسود والتوابل مطابقة للمواصفة القياسية السورية، حيث لم يزد التعداد عن 10^6 خلية/غ. وقد تم تحديد خمسة أنواع من البكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae ذات التأثير على الصحة العامة، حيث بلغت النسبة المئوية لتواجد النوع *Klebsiella pneumoniae* حوالي 69.15% وكانت الأكثر انتشاراً ضمن عينات التوابل والمجففات النباتية المدروسة، تلاه النوع *Kluyvera intermedia* بنسبة تواجد بلغت 16.25%، وبنسبة 12.1% من أجل*Klebsiells spp*، والنوعان *Enterobacter aerogenes* و*Enterobacter farmei* بنسبة تواجد بلغت 1.25%.

الكلمات المفتاحية: البهارات، API 20E ، ميكروبيولوجيا.

Study of the presence of bacteria belonging to the contaminated Enterobacteriaceae family for some Syrian spices

Abou younes A. E.* **Saleem, Sh.****
Albahsh. R.***

Abstract

Seasoning are natural products used to add flavor and color to many kinds of foods. Due to their traditional way of production, they could harbor wide range of contaminants, leading to different kinds of intoxications.
In this study, we collected 75 samples of Seasoning from the Syrian markets (mint, black pepper, cumin, spices and red pepper) to evaluate the bacterial content of the coliform group and identify the dominant species. The coliform group was detected using the agar medium, a series of biochemical tests were carried out on isolated strains of samples to study their properties and then identify them using API 20E, The results of the Coliform content of the cumin samples compared to the Syrian standard 2179(2007) showed that five samples were above the recommended limits., while all samples of mint, black pepper and spices were in accordance with the Syrian standard as long as the bacterial counts were equal or below 6 log CFU/g. Five types of bacteria have been identified that have an impact on public health. The percentage of occurrences of isolated bacteria was The highest for *Klebsiella pneumoniae* with 69.15%, 16.25% for *Kluyvera intermedia*, 12.1% for *Klebsiells spp*, 1.25% for both *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter farmei*.
Keywords: Microbiology, spices, API 20E.

* Associat. Prof., Food Science Department - University of Damascus.
** Eng. Food Science Department - University of Damascus.
*** Eng. Food Science Department - University of Damascus.

المقدمة:

تشكل التوابل والمجففات النباتية ركناً أساسيا في الصناعات الغذائية وفي تحضير الطعام، وبشكل عام يتم إنتاج التوابل عن طريق تجفيف جذور النباتات أو الأوراق أو اللحاء وفي بعض الأحيان تجفيف الزهور أو البذور وذلك للنباتات في المناطق الرطبة الدافئة من العالم (Aguilera وزملاؤه، 2005)، وتستخدم التوابل والمجففات النباتية من أجل إضافة نكهة وطعم أو إضافة لون للطعام (Weiss، 2002)، ويتم حفظ التوابل أو المجففات النباتية بتجفيفها إما تحت أشعة الشمس أو بتيارات هوائية ساخنة (Ravindran وMadhusoodanan، 2002)، بشكل عام فإن التوابل والمجففات النباتية تمتلك حمولة جرثومية عالية، وقد تكتسب التوابل هذه الحمولة أثناء نموها في التربة ووسط الطبيعية، ومن عمليات القطف والتجفيف والتجهيز والتخزين والتسويق، وبالتالي تصل التوابل والمجففات إلى المستهلك محمّلة بحمولة جرثومية عالية، ففي إسبانيا، جرت دراسة عن تقييم الحمولة الجرثومية لـ 53 عينة من التوابل والأعشاب المجففة المباعة في السوق المحلية، فوجدت الدراسة أن نسبة تلوث التوابل بلغت 10% ونسبة تلوث المجففات النباتية بلغت 25% بالبكتيريا الهوائية وأن نسبة التلوث ببكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae وصلت لحد 26% في التوابل والأعشاب، وكانت معظم البكتيريا المعزولة تتبع جنس *Shigella* (Sospedra وزملاؤه، 2010)، وفي دراسة جرت في بريطانيا على عينات من التوابل والأعشاب المجففة جمعت من أماكن الإنتاج، وجد أن 3% من العينات ملوثة ببكتيريا *Escherichia coli*، في حين 86.4% من العينات المدروسة كانت تتصف بتعداد بكتيري عالي وغير مقبول بالمواصفة الأوروبية (Sagoo وزملاؤه، 2009)، وفي دراسة قام بها Beki وUlukanli(2008)، على 75عينة من التوابل المنتشرة في تركيا، لم يلاحظ وجود السالمونيلا أو بكتيريا *Escherichia coli* O157:H7، في حين كان تعداد البكتيريا المحبة للحرارة المتوسطة في جميع العينات المدروسة مرتفع ومرفوض مقارنة بالمواصفة القياسية التركية. في دراسة ميكروبية نشرت

في إيرلندا والتي جرت على 30 عينة من خلطات التوابل المستخدمة في تحضير الوجبات السريعة، حيث أثبتت الدراسة أن 20% من هذه الخلطات كانت ملوثة بالبكتيريا المحبة للحرارة المتوسطة بتعداد غير مقبول في المواصفة الأوروبية، وأن 23% من العينات كانت تحتوي على بكتيريا تابعة لفصيلة Enterobacteriaceae (Witkowska وزملاؤه، 2011). يمكن أن يحدث تلوث التوابل خلال عمليات الحصاد والمعالجة والنقل وقد يصل هذا التلوث من 10^5 إلى 10^8 خلية/غرام بحسب نوعية التوابل (Betts، 2014)، وقد أعلن مركز مكافحة الأمراض المزمنة بأن 238 حالة تسمم ببكتيريا السالمونيلا تم تسجيلها في كولومبيا خلال 2008 و2009 ارتبطت بتناول منتجات السلامي والتي استخدم في تصنيعها الفلفل الأسود الملوث والفليفلة الحمراء الملوثة ببكتيريا السالمونيلا (Jaradat وزملاؤه، 2009)، وفي دراسة جرت في الاردن، عام 2009 لوحظ أن الجنس السائد في 67عينة من عينات التوابل والأعشاب هو جنس *Cronobacter* بنسبة 26% (ICMSF، 2011). نتيجة قلة الأبحاث المحلية حول التوابل والأعشاب المجففة فقد هدف البحث إلى دراسة لبعض الخصائص الميكروبية لمجموعة التوابل والمجففات العشبية المنتشرة في السوق المحلية والأكثر استخداماً في الخلطات المحلية ودراسة مدى تلوثها ببكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae وخاصة مجموعة بكتيريا الكوليفورم، وتحديد الأنواع البكتيرية التابعة لها الأكثر انتشاراً فيها، إضافة لدراسة مدى توافقها مع المواصفة القياسية السورية.

مواد البحث وطرائقه:

جمع العينات: تم إجراء الكشف عن الأنواع التابعة لبكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae وخاصة لمجموعة الكوليفورم في 75 عينة من التوابل والمجففات النباتية توزعت بالشكل التالي: 15 عينة نعنع، 15 عينة فلفل أسود، 15 عينة بهار، 15 عينة كمون، 15عينة من الفليفلة الحمراء)، جُمعت العينات من مناطق مختلفة من دمشق وبشكل عشوائي في الفترة الممتدة ما بين تشرين الثاني 2014– ايلول 2015، حيث تمّ أخذ العينات بالأدوات نفسها التي يستخدمها البائع، ووضعت ضمن أكياس معقمة مسبقاً مزودة بشريط إغلاق لصق عليها بطاقة تعريف رقم العينة واسمها ومكان الجمع وتاريخه، جرى التحليل في مخابر قسم علوم الأغذية– كلية الزراعة– جامعة دمشق.

تمت عملية الكشف عن الأنواع التابعة لبكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae وخاصة مجموعة الكوليفورم وعزلها وتحديد هويتها وفق الخطوات التالي (Feng وزملاؤه، 2002):

– إضافة 10 غرام من البهار إلى 90 مل من محلول التخفيف المعقم مسبقاً (المكون من 8 غرام كلوريد الصوديوم، 1غ ببتون، ويكمل الحجم بالماء المقطر إلى 1000 مل) ويتم المزج الجيد، وبذلك يتم الحصول على التخفيف الأول.

– نقل واحد مل من التخفيف المناسب وفي ظروف معقمة إلى طبق بتري وبمكررين لكل تخفيف، يضاف إلى الأطباق بيئة ماكونكي أغار المعقمة السائلة بحرارة 50 مْ بمعدل 15 مل إلى الأطباق، وذلك بتحريك الطبق إلى بصورة دائرية مع عقارب الساعة وبعكسها، ثم تترك حتى يتصلب الوسط، تحضن الأطباق مقلوبة في الحاضنة في الدرجة 37 م وفي الدرجة 44.5 مْ مدة 48 ساعة.

أجريت على البكتيريا التي تشكل مستعمرات نموذجية (مستعمرات زهرية إلى حمراء) مجموعة من الاختبارات البيوكيميائية، حيث جرى دراسة صبغة الغرام وشكلها تحت

المجهر، ونقلت السلالات التي كانت سالبة الغرام عصوية الشكل إلى أطباق EMB أغار (Eosin Methylene Blue agar) (شركة Scharlau – اسبانيا) وهي تعد بيئة تفريقية لبكتيريا المعوية، حيث تحتوي هذه البيئة على دليلين هما :Eosin وMethyleneblue الذين يفرقان بين البكتيريا المخمرة لسكر اللاكتوز وغير المخمرة حيث أن السلالات المخمرة للاكتوز التي تكتسب اللون الداكن ذو اللمعان الأخضر المعدني تعتبر سلالات لبكتيريا *Escherichia coli*، أما الأجناس الأخرى المخمرة لسكر اللاكتوز مثل بكتريا تابعة للجنس *Enterobacter* فإن مستعمراتها تكتسب اللون الوردي الداكن، في حين أن السلالات ذات المظهر اللامع المخاطي تابعة لجنس *Klebsiella*، وتظهر الأجناس غير المخمرة للاكتوز بمستعمرات شفافة على البيئة EMB أغار.

تم إجراء بعض الاختبارات البيوكميائية المحددة للأجناس كاستخدام الاسترات كمصدر وحيد للكربون، وإنتاج الغاز CO2 عند تخمير الغلوكوز، واختبار إنتاج الاسيتوئين (V-P test) Voges –Proskauer إضافة لاختبار Triple Sugar Iron Test (TSI) (test، وقد استخدم نظام *API 20E* من شركة BioMérieux – فرنسا لتمييز البكتيريا العائدة لبكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae، يتضمن النظام مجموعة من الاختبارات الكيميائية الحيوية التي تسمح بدراسة استقلاب الكربوهيدرات المميزة للبكتيريا، وذلك باستخدام الخطوات التالية:

حُلت المستعمرات البكتيرية في محلول ملحي 0.85% معقم، مُلئت حفر قاعدة صفيحة الـ *API 20E* بالماء، وُضع المحلول الملحي الحاوي على البكتيريا في صفيحة الـ *API 20E*، ثم حُضنت مدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37ْم، بعد انتهاء فترة التحضين، وُضعت الكواشف المناسبة وقرأت النتيجة بمقارنة الصفيحة مع الجداول المناسبة في دليل Index من شركة BioMérieux – فرنسا.

النتائج و المناقشة:

1 –دراسة التعداد العام لبكتريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae للتوابل ومدى مطابقتها للمواصفة القياسية السورية:

يوضح الجدول 1 نتائج التعداد على بيئة الماكونكي للعينات المدروسة.

الجدول(1): التعداد العام لبكتريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae في عينات التوابل والمجففات النباتية (خلية/غ).

رقم العينة	نعنع	الكمون	التوابل	الفلفل الأسود	الفليفلة الحمراء
1	3.2×10^2	$\mathbf{8\times 10^{11}}$	8×10^2	2.4×10^2	–
2	6.8×10^2	24×10^2	1.2×10^3	3.2×10^2	–
3	7.2×10^2	8×10^2	1.4×10^3	5.2×10^2	–
4	1×10^3	$\mathbf{1\times 10^{12}}$	7.2×10^2	6×10^2	–
5	2×10^2	$\mathbf{5\times 10^{11}}$	1×10^3	10×10^2	–
6	9×10^2	9×10^2	1.2×10^3	5×10^2	–
7	4×10^2	3.5×10^2	1.3×10^3	7×10^2	–
8	3.2×10^2	8.4×10^2	1.2×10^3	5×10^2	–
9	7×10^2	1.1×10^3	2×10^2	10×10^2	–
10	6.5×10^2	$\mathbf{6\times 10^{11}}$	8.7×10^2	3.4×10^2	–
11	2×10^2	8×10^2	8×10^2	2.4×10^2	–
12	9×10^2	5.2×10^2	4.1×10^2	5×10^2	–
13	1.1×10^3	1.1×10^3	1.2×10^3	1.1×10^3	–
14	8×10^2	$\mathbf{3\times 10^{11}}$	5.5×10^2	8×10^2	–
15	3.2×10^2	8×10^2	1.2×10^3	4×10^2	–

حيث: –هي خلو العينات من الكوليفورم

يلاحظ من الجدول (1) وبالمقارنة مع المواصفة القياسية السورية رقم 2179 تاريخ2007، والتي أكدّت على عدم زيادة تعداد بكتيريا الكوليفورم في عينات التوابل عن 10^6 خلية/غ دون تحديد نوعية البهارات، وبالمقارنة نجد أن عينات الكمون رقم (10،14،5،4،1) غير مطابقة للمواصفة، أي النسبة المئوية للعينات المخالفة كانت 33.3% من عينات الكمون،

في حين جاءت باقي العينات لكل من (النعنع، الفلفل الأسود، البهارات) مطابقة للمواصفة القياسية السورية.

يعود التلوث بالبكتيريا التابعة للكوليفورم (والذي تعدى المواصفة القياسية السورية في بعض عينات الكمون) إلى التقنيات الخاطئة المتبعة أثناء عمليات التداول وبخاصة التخزين على درجة حرارة غير مناسبة ولفترات طويلة من الزمن، كما أن إنتاج هذه التوابل في ظل ظروف غير صحّية، وعدم تجفيفها بشكل كاف، والتعبئة اليدوية للمنتجات النهائية جميعها عوامل تساهم بارتفاع المحتوى الميكروبي لهذه المنتجات (Gallo وزملاؤه، 1992). وربما يعود ذلك إلى عدم التأكد من سلامة ونظافة المياه المستخدمة في عملية الري.

أما في عينات الفليفلة الحمراء لوحظ انعدام وجود البكتيريا التابعة لمجموعة الكوليفورم، مما يدل على امتلاكها القدرة على منع نمو الأحياء الدقيقة، والذي يجعلها ذات أهمية كبيرة في العلاجات الدوائية (Rojas وزملاؤه، 2006).

2 –تحديد هوية البكتريا المعزولة:

دُرست خصائص المستعمرات التي عُدَّت نموذجية على بيئة الماكونكي (شركة Scharlau – اسبانيا)، حيث تم نقل المستعمرات التي أعطت شكل نموذجي لمجموعة الكوليفورم إلى بيئة EMB أغار بطريقة التخطيط، بعد ذلك تم التحضين حتى ظهور المستعمرات والتي أعطت أشكال مختلفة، حيث بلغ عدد السلالات المعزولة (240)، كما تم إجراء بعض الاختبارات البيوكيميائية على جميع السلالات كاختبار الكاتلاز، استخدام السترات، اختبار (Voges –Proskauer)، اختبار Triple Sugar Iron ويوضح الجدول 2 نتائج هذه الاختبارات.

الجدول(2): الخصائص البيوكيميائية للسلالات المدروسة.

الخاصية	عدد السلالات
عصوية تحت المجهر	240
سالبة الغرام	240
موجب الكاتلاز	240
تخمير السترات	29
إنتاج الاسيتوئين VP	39
تخمير كامل TSI	180

3 – نتائج تحديد هوية السلالات باستخدام نظام API 20 E : يوضح الجدول (4) نتائج نظام API 20E وعدد السلالات.

الجدول(3): نتائج نظام API 20E وعدد السلالات.

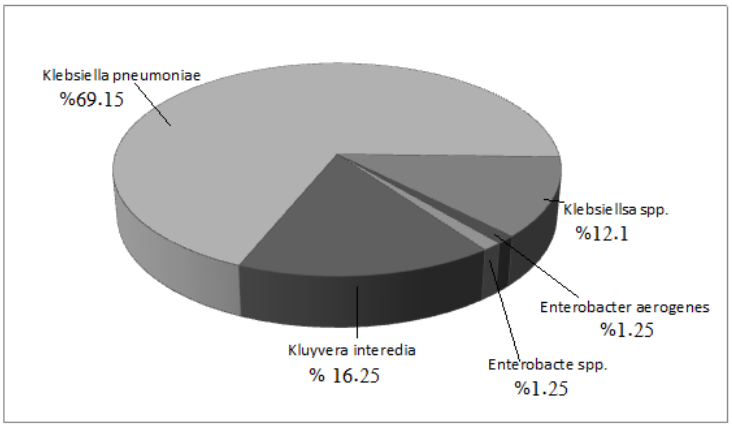
السلالات	النوع	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
39	*K.interedia*	–	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
166	*K.pneumoniae*	–	–	+	–	–	+	+	–	+	+	–	+	+	–	+	+	+	+	+	+
29	*Klebsiellsa spp.*	–	–	+	+	–	+	+	–	–	+	+	–	+	+	+	+	–	+	+	–

3	*E.aerogenes*	±	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
3	*Enterobacter spp.*	±	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	±	−	−	−	−	−	+	+	+	+

ويظهر الجدول (4) والشكل (1) النسب المئوية لوجود الأنواع التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae التي جرى الكشف عنها بتقنية API في عينات التوابل والمجففات النباتية المدروسة.

الجدول(4): تحديد الأنواع الملوثة باستخدام *API 20E* .

النوع	عدد السلالات	النسبة المئوية%
Kluyvera interedia	39	16.25
Klebsiella pneumoniae	166	69.15
Klebsiellsa spp.	29	12.1
Enterobacter aerogenes	3	1.25
Enterobacter spp.	3	1.25
الإجمالي	240	100



الشكل(1): النسبة المئوية للأنواع المعزولة.

تم عزل 240 مستعمرة، وكانت البكتيريا السائدة *Klebsiella pneumoniae* في 166 مرة في 75 عينة المدروسة، وتكرر ظهور *Kluyvera interedia* في 39 مرة في75 عينة المدروسة، وتكرر ظهور *Enterobacter aerogenes* في ثلاث عينات فقط، ولم يتم التعرف إلى نوع *Klebsiellsa* في 29 عينة، وكذلك لم يتم التعرف إلى نوع *Enterobacter* في 6 عزلات باستخدام صفيحة API.

يوضح الجدول (5) توزع الأنواع التي تم الكشف عن وجودها في التوابل والمجففات النباتية.

الجدول(5): الأنواع السائدة في التوابل والمجففات المدروسة

النوع	التوابل والمجففات النباتية
Kluyvera interedia	نعنع، فلفل أسود، بهارات
Klebsiella pneumoniae	نعنع، فلفل أسود، كمون، بهارات
Klebsiellsa spp.	نعنع، بهارات
Enterobacter aerogenes	فلفل أسود
Enterobacter spp.	كمون

أظهرت النتائج أن جنس *Klebsiellsa* كانت الأكثر انتشاراً ضمن التوابل والمجففات النباتية المدروسة، وهذا يتوافق مع دراسة محلية أجراها Al-Mariri وزملاؤه (2013) بالرغم من انخفاض نسبة وجودها مقارنة مع هذه الدراسة (مجموع الجنس كامل دون اعتماد النوع 81.25%)، حيث بلغت نسبة ظهور جنس *Klebsiellsa* في التوابل في دراسة Al-Mariri وزملاؤه (2013) حوالي 32%، في حين ظهر جنس *Klebsiellsa* بنسبة أقل مقارنة مع نتائج هذا البحث، في التوابل الباكستانية لم تتعدى 16% (Masood وزملاؤه، 2006)، وربما يفسّر ذلك بسبب اختلاف الظروف البيئة المحيطة. وتخالف نتائج البحث نتائج نشرت حول نسبة تلوث التوابل في إسبانيا بلغت 10% ونسبة تلوث المجففات النباتية بلغت 25% ببكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae وكان جنس *Shigella* البكتيريا السائدة (Sospedra وزملاؤه، 2010)، كما ويخالف الدراسة الاردنية التي وجدت أن جنس *Cronobacter* هو الجنس السائد في التوابل المباعة في السوق بنسبة 26% (ICMSF، 2011).

التحليل الإحصائي: خضعت جميع النتائج إلى تحليل التباين (Variance) باستخدام برنامج التحليل الإحصائي (SPSS version13,2003) على اعتبارها تمثل تصميماً قطاعياً عشوائياً متكاملاً (Completely randomized block design) بعد إدخال مكررين لكل قراءة. كما هو موضح بالجدول (6).

الجدول (6): جدول بالتحليل التباين

مصادر التباين	درجة الحرية	مجموع مربع الانحرافات	متوسط مجموع مربع الانحرافات	F	المعنوية 5%
نوع المنتج	3	70.28	5.493	*	1.511
توزع الانواع	4	23.85	4.265		
التفاعل	12	30.13	2.51		
الخطأ التجريبي	32	1.38	58		

نجد من جدول التحليل التباين، وجود فروق معنوية بين أنواع التوابل من حيث التعداد العام على مستوى معنوية 5%، وكانت هذه الفروق واضحة بين الكمون وكل من النعنع والفلفل الأسود والتوابل

الاستنتاجات:

1 – تعد التوابل والمجففات النباتية المنتشرة في السوق المحلية ملوثة بالبكتيريا التابعة لفصيلة Enterobacteriaceae وخاصة بمجموعة الكوليفورم

2 – خالفت عينات الكمون المواصفة القياسية من حيث تعداد بكتيريا الكوليفورم

3 – أعلى نسبة تلوث سجلت لبكتيريا جنس *Klebsiellsa* في التوابل والمجففات النباتية السورية.

4 – تقوم طرائق تجهيز ونقل وتخزين التوابل والمجففات النباتية بدورٍ كبيرٍ في تلوثها.

معلومات التمويل : هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

المراجع References:

- **المواصفة القياسية السورية الاشتراطات الصحية للمواد الغذائية رقم 2179 لعام 2007.**
- **Aguilera, M.O., Stagnitta, P.V., Micalizzi, B. and De Guzman, A.M.S., 2005.** Prevalence and characterization of *Clostridium perfringens* from spices in Argentina. Anaerobe 11(6): 327-334.
- **Al-Mariri, A., Hamad, I. and Soliman, N., 2013**. Detection of Klebsiella spp. in Some Spices Taken from Local Markets. Biological Sciences Series 35 (1): 183-198.
- **Beki, I., and Ulukanli, Z. 2008.** Enumeration of microorganisms and detection of some pathogens in commonly used spices sold openly from retail stores in Kars. G.U. J Sci 21: 79-85.
- **Betts, R. 2014.** Microbial update herbs and spices. International Food Hygiene 25 (1): 9-11.
- **Gallo, G., Berzero, R., Caltai, N., Recchia, S. and Orefci, G. 1992**. An outbreak of group a food-borne *Streptococcal pharyngitis*. European Journal of Epidemiology 8(2): 292-297.
- **ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2011**. Microorganisms in foods 8. Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance. (1st edn), Springer, India. Journal. 25-39.
- **Jaradat ZW, Ababneh QO, Saadoun IM, Samara NA, and Rashdan AM 2009**. Isolation of Cronobacter spp. (formerly Enterobacter sakazakii) from infant food, herbs and environmental samples and the subsequent identifcation and confrmation of the isolates using biochemical, chromogenic assays, PCR and 16S rRNA sequencing. BMC Microbial9: 225- 236.
- **Masood, N. Chaudhery, A. and Perween, T. 2006**. Bactericidal activity of black, pepper, Bayleaf, Aniseed and Coriander against oral isolates. Pak. J. Pharm. Sci. 19: 214-218.
- **Ravindran, P.N. and Madhusoodanan, K.J., 2002**.Cardamom: the genus *Elettaria*, in Cardamom: thegenus Elettaria. CRC Press. PP: 400-420.
- **Rojas R, Bustamanate B, Bauer J, Fernadez L, Albaro J, and Lock, O. 2006**. Antimicrobial activity of selected Peruvian Medicinal plants. J. Ethnophramacol. 88:199-204.
- **Sagoo, S.K., Little, CL., Greenwood, M., Mithani, V., and Grant, K.A., 2009.** Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs from production and retail premises in the United Kingdom. Food Microbial 26(1): 39-43.

- **Sospedra, I., Soriano, J.M., and Mañes, J. 2010**. Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs commercialized in Spain. Plant Foods for Human Nutrition 65(4): 364-368.
- **Stankovic, N. Comic, L. and Kocic, B. 2006**. Microbiological correctness of spices on sale in health food stores and supermarkets. Acta fac. Med Naiss. 23: 79-84.
- **Weiss, E.A., 2002**. Spice crops. CABI Publishing Wallingford, UK. PP: 432-438.
- **Witkowska AM, Hickey DK, Alonso-Gomez, M, and Wilkinson, MG. 2011.** The microbiological quality of commercial herb and spice preparations used in the formulation of a chicken supreme ready meal and microbial survival following a simulated industrial heating process. Food Control 22(5): 616-625.